

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАРКЕР (VAL158MET ГЕНА COMT) РАЗВИТИЯ АЛКОГОЛЬНОЙ И НАРКОТИЧЕСКОЙ ЗАВИСИМОСТИ

Л.И. Левковец¹, Т.Л. Лебедь¹, С.Б. Мельнов²

¹Полесский государственный университет, г. Пинск

²Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь

Определены частоты аллелей и генотипов полиморфных локусов G472A гена COMT у лиц, состоящих на учете в наркологическом диспансере. Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом ПЦР.

Ключевые слова: алкоголизм, наркомания, психоактивные вещества, катехол-О-метилтрансфераза, дофамин.

GENETIC MARKER (VAL158MET OF THE COMT GENE) DEVELOPMENT OF ALCOHOL AND NARCOTIC DEPENDENCE

L.I. Leukovets¹, T.L. Lebedz¹, S.B.Melnov²

¹Polessky State University, Pinsk

²Belarusian State University, ISEI BSU
Minsk, Republic of Belarus

The frequencies of alleles and genotypes of polymorphic loci G472A of the COMT gene in persons registered at the narcological dispensary are determined. Molecular genetic research was performed by PCR.

Keywords: *alcoholism, drug addiction, psychoactive substances, catechol-O-methyltransferase, dopamine.*

Введение. Зависимость от психоактивных веществ (ПАВ) выступает ключевым признаком любой наркологической патологии, стержневым патогенетическим феноменом, вокруг которого формируются прочие клинические и социальные проявления заболевания. Молекулярные механизмы развития зависимости от психоактивных веществ базируются в стволовых и лимбических структурах мозга, в тех его областях, где располагается так называемая система эмоционального подкрепления, которая участвует в обеспечении регуляции эмоционального состояния, сердечно-сосудистых и вегетативных реакций, настроения, мотивационной сферы, психофизического тонуса, поведения человека в целом, его адаптации к окружающей среде.

Высокие цифры заболеваемости наркологической патологией, тяжесть болезни, выраженность медицинских и социальных последствий и часто незначительный эффект стандартной комплексной терапии у пациентов с синдромом зависимости от психоактивных веществ ставят перед исследователями задачи поиска специфических маркеров различных вариантов течения заболевания, обусловленных разными уровнями биологического (генетического) риска его развития.

По данным ГУ «РНЦП психического здоровья» в конце 2017 г. в Республике Беларусь общее число диспансерных больных с алкоголизмом, наркоманией и токсикоманией составило свыше 185 тыс. человек, в Брестской области абсолютное число диспансерных составило свыше 25 тыс. пациентов [1]. Большинство зарегистрированных в стране пациентов с наркоманией – молодёжь в возрасте 20-40 лет, в том числе учащихся различных учебных заведений.

Проблема зависимости от психоактивных веществ изучается достаточно давно, однако механизмы, посредством которых ПАВ вызывают зависимость, а также генетические факторы, делающие некоторых подверженными зависимости, остаются непонятыми. Зависимость от ПАВ относится к большому классу заболеваний мультифакториальной природы, манифестация которых определяется взаимодействием генетических факторов в виде наследственной предрасположенности и факторов внешней среды. Наследование предрасположенности к наркологическим заболеваниям относят к полигенному или олигогенному типу, предполагающему вовлеченность и взаимодействие нескольких генов [2].

Анализ данных нейрохимических исследований [3, 4, 5] позволил сделать вывод о принципиальном единстве центральных механизмов зависимости от разных психоактивных веществ. У веществ, способных вызвать синдром зависимости (алкоголь, наркотики), имеется общее звено фармакологического действия – характерное влияние на катехоламиную нейромедиацию в стволовых структурах мозга. Воздействие психоактивных веществ на начальных стадиях приводит к интенсивному выбросу из депо в этих отделах мозга нейромедиаторов из группы катехоламинов, в первую очередь – дофамина, что сопровождается сильным возбуждением системы «подкрепления». Длительный прием ПАВ приводит к истощению запасов нейромедиаторов, что проявляется недостаточно выраженным возбуждением системы «подкрепления». Прием ПАВ на этом фоне вновь вызывает дополнительное высвобождение нейромедиаторов из депо, что временно компенсирует их дефицит в синаптической щели и нормализует деятельность лимбических структур мозга. Однако катехоламины вновь быстро разрушаются, что приводит к дальнейшему падению их содержания, ухудшению психоэмоционального состояния и, соответственно, к повторному приему ПАВ.

Предполагают, что в основе развития наркологического процесса лежат индивидуальные особенности функционирования нейромедиаторных систем и их компенсаторных возможностей при длительном воздействии наркотических веществ. Данные различия в функционировании нейрональных систем и опиоидной рецепции обуславливают

неодинаковую степень восприимчивости к определенным наркотическим веществам как отдельных лиц, так и этнических групп. Именно это послужило основанием для изучения генов нейромедиаторных систем [6] и опиоидной рецепции [7]. Ген дофаминавого рецептора 4-го подтипа (DRD4) рассматривается как ген-кандидат при наркоманиях [8], так как высокополиморфный участок тандемного поворота (VNTR) в 3-м экзоне может быть связан с разными функциональными модификациями. Ген дофаминавого транспортера (DAT) с VNTR в 3'-нетранслируемой области гена исследуется как ген-кандидат в предрасположенности к наркомании и психическим расстройствам. Ген серотонинового транспортера подкласса 4-го подтипа (5-HTT) имеет два полиморфных маркера (VNTR и ID), ассоциирующихся с употреблением ПАВ. Ген мю-опиоидного рецептора (OPRM1) с однонуклеотидным полиморфизмом (SNP) 118A-G также рассматривается как ген-кандидат при опиоидной зависимости.

Ранее нами было проведено молекулярно-генетическое типирование полиморфизмов генов дофамин-транспортного белка DAT1 (G2319A) и гена-фермента DBH (5'-ins/del), где установлена роль полиморфных локусов исследуемых генов в развитии патологической зависимости [9, 10].

В настоящем исследовании был проведен анализ Val158Met полиморфизма гена катехол-О-метилтрансферазы (COMT). Катехол-О-метилтрансфераза – ключевой фермент дофаминергической и норадренергической нейромедиации, контролирующей биотрансформацию дофамина по пути образования метилированных продуктов [11]. В экзоне 3 гена COMT обнаружен функциональный полиморфизм Val158Met, в котором замена нуклеотида (G→A) приводит к замене аминокислоты валин на метионин при синтезе белка COMT, что приводит к повышению уровня катехоламинов и развитию психоневрологических заболеваний. Один из полиморфных аллелей – G (Val, валин) обеспечивает нормальную активность фермента, второй – A (Met, метионин) вызывает 3-4-кратное снижение активности COMT по сравнению с G аллелем [12]. Различия в активности COMT имеют важное влияние на процессы, связанные с дофаминергической трансмиссией. Известно, что при высокой активности COMT дофаминергические нейроны менее активны, а его низкая активность, напротив, ассоциирована с активацией дофаминергических нейронов. При этом предполагается, что полиморфный вариант, ослабляющий активность фермента, может вести к повышенному метаболизму дофамина в нейромеланин, способствующий образованию цитотоксичных радикалов, обуславливающих дегенерацию нейронов.

Целью нашего исследования явилось изучение распределения генотипов полиморфного локуса COMT Val158Met в группе лиц, состоящих на наркологическом учете и контрольной группе.

Материалы и методы. В НИЛ лонгитудинальных исследований УО «Полесский государственный университет» (г. Пинск) было проведено молекулярно-генетическое типирование 47 человек, состоящих на наркологическом учете в филиале «Межрайонный наркологический диспансер» УЗ «Пинская центральная поликлиника» и 55 практически здоровых людей контрольной группы. Все респонденты были проинформированы о целях проводимого исследования и подписали информированное согласие на участие в научном исследовании.

В качестве ДНК-содержащего материала для предстоящего молекулярно-генетического тестирования был выбран буккальный эпителий. Забор буккального эпителия осуществляется с помощью специальных одноразовых стерильных зондов путём соскоба клеток с внутренней стороны щеки без нарушения целостности слизистой поверхности. Перед забором производится тщательное полоскание полости рта водой или физиологическим раствором.

В основе метода выделения ДНК лежал лизис клеток буккального эпителия додецилсульфатом натрия и деградация белков протеиназой К. Клеточный лизат обрабатывали смесью перхлората натрия, хлороформа, изоамилового спирта. Преципитацию ДНК проводили этанолом, а затем растворяли в буфере для хранения. ДНК, выделенная данным методом, была пригодна для длительного хранения и давала возможность использовать образцы, содержащие деградированную ДНК [13].

Генотипирование образцов ДНК пациентов проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующей обработкой ампликона эндонуклеазой рестрикции NlaIII. Амплифицированные фрагменты ДНК разделяли электрофоретически в горизонтальном 2 % агарозном геле. После окончания электрофореза гель окрашивали раствором бромистого этидия и визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе.

При статистической обработке данных в качестве анализируемых показателей использовали частоту аллелей и генотипов (сочетаний этих аллелей) по полиморфному локусу Val158Met гена COMT в контрольной и экспериментальной группах пациентов. Для анализа результатов использовали статистику χ^2 с доверительным интервалом 5%, дающую возможность оценки различий в частоте признака в генеральных совокупностях по частотам признака в ограниченных выборках.

Результаты и обсуждение. Распределение генотипов гена COMT в экспериментальной и контрольной группах (таблица) соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2=0,05$; $p=0,82$; $\chi^2=0,20$; $p=0,65$).

Таблица – Распределение частот генотипов и аллелей гена COMT у экспериментальной и контрольной группах

Полиморфизм гена	Варианты		Экспериментальная		Контрольная группа		χ^2	p	OR	
			n=47	%	n=55	%			значение	95% CI
Val 158Met COMT	Генотип	AA	10	21.3	5	9.1	7.68	<0,05	2.70	0.85-8.58
		GA	25	53.2	22	40.0			1.70	0.78-3.74
		GG	12	25.5	28	50.9			0.33	0.14-0.77
	Аллели	A	45	47.9	32	29.1	7,61	<0,05	2.24	1.26-3.99
		G	49	52.1	78	70.9			0.45	0.25-0.80

В ходе исследования полиморфизма Met158Val гена COMT установлено статистически значимое преобладание носительства аллеля А (47.9%, $\chi^2=7,61$, $p<0,05$, (df=1), OR=2.24 [1,26-3,99]) по сравнению с контрольной группой. К тому же выявлено преобладание генотипа AA (21,3%) в экспериментальной группе по отношению к контрольной группе ($\chi^2=7,68$, $p<0,05$, (df=1), OR=2,70 [0.85-8,58]).

Низкоактивные генотипы прежде всего связаны с высокой активностью нейромедиаторов за счет их медленного расщепления и длительного пребывания в синаптическом пространстве. Отмечается так же склонность к преодолению норм и правил, принятых в социуме. Личности характеризуются меланхолическим типом темперамента, низким уровнем агрессивности, интеллектуальной скорости и активности, а также склонны к обиде и неконформизму. Однако для того, чтобы закрепить за различными генотипами те или иные психологические особенности, необходимо также учитывать специфику средовых воздействий, оказываемых родителями, обществом, условиями жизни и пр.

Заключение и выводы.

Полученные в ходе исследования результаты позволяют рассматривать полиморфный локус Val158Met в гене COMT как специфический маркер, направленный на раннее выявление лиц «группы риска» развития наркологических заболеваний, а также потребителей психоактивных веществ с начальными признаками формирования зависимости. Носительство аллеля А увеличивает риск развития зависимости в 2,2 раза.

Выявление подобных маркеров позволит повысить эффективность профилактических мероприятий и ранней диагностики, а также обосновать применение дифференцированной терапии для пациентов с разными уровнями генетического риска. Поиск оптимальных методов раннего выявления лиц с факторами риска наркологической патологии

наряду с внедрением молекулярно-генетического тестирования должен дополняться разработкой алгоритма дальнейших профилактических мероприятий.

Список литературы:

1. Здравоохранение в Республике Беларусь [Электронное издание]: офиц. стат. сб. за 2017 г. — Минск: ГУ РНМБ, 2018. - 274 с.: табл.
2. Анохина И.П. Итоги научно-исследовательских работ за 2007 г. по комплексной проблеме «Наркология», координируемой научным советом РАМН / И. П. Анохина, Н.Н. Иванец, Е.В. Борисова, В.Я. Дробышева // Вопросы наркологии. -2008. - №4. — С. 3-15.
3. Анохина, И.П. Биологические механизмы предрасположенности к зависимости от психоактивных веществ / И.П. Анохина // Вопросы наркологии. 2006. — № 1. — С. 21–30.
4. Кибитов, А.О. Молекулярно-генетический анализ наследственной отягощенности по алкоголизму у наркологических больных: полиморфизм гена дофаминавого рецептора типа 4 (DRD4) / А.О. Кибитов, Е.Ю. Вскобоева, В.М. Бродянский, Н.А.Чупрова, Е.В. Смирнова // Вопросы наркологии. 2009. — № 4. — С. 13–31.
5. Кибитов, А.О. Полиморфизм генов дофаминавых рецепторов у больных алкоголизмом и героиновой наркоманией / А.О. Кибитов, Е.Ю. Воскобоева, И.А. Моисеев, И.Ю. Шамакина, И.П. Анохина // Наркология. 2007. — № 4. — С. 31–38.
6. Saxon A.J. Genetic determinants of addiction to opioids and cocaine / A.J. Saxon, M.R. Oreskovich // Brkanac. Z. Harv. Rev. Psychiatry. 2005. Jul. — Aug. V. 13 (4). P. 218—232.
7. Bond C. Single-nucleotide polymorphism in the human mu opioid receptor gene alters beta-endorphin binding and activity: possible implications for opiate addiction / C. Bond, K.S. LaForge, M. Tian et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. 2008. V. 95. P. 9608—9613.
8. Бочков Н.П., Асанов А.Ю., Аксенова М.Г. и др. Генетические факторы в этиологии и патогенезе наркоманий (обзор литературы) // Наркология. 2003. № 1. С. 7—14.
9. Левковец Л.И. Ассоциация гена дофамин-транспортного белка (DAT1) с риском развития алкогольной и наркотической зависимости / Л.И. Левковец, Т.Л. Лебедь, С.Б. Мельнов // Сахаровские чтения 2017 года: экологические проблемы XXI: материалы 17-й международной научной конференции, 18–19 мая 2017 г., г. Минск, Республика Беларусь : в 2 ч. / Междунар. гос. экол. ин-т им. А. Д. Сахарова Бел. гос. ун-та; редкол. : С. Е. Головатый [и др.] ; под ред. д-ра ф.-м. н., проф. С. А. Маскевича, д-ра с.-х. н., проф. С. С. Позняка. — Минск: ИВЦ Минфина, 2017. — Ч. 1. — С. 181-182.
10. Левковец Л. И. Ассоциация полиморфизма гена DBH (5'- ins/del) с развитием алкогольной и наркотической зависимости / Л.И. Левковец, Т.Л. Лебедь // Проблемы и перспективы развития современной медицины: сборник научных статей X Республиканской научно-практической конференции с международным участием студентов и молодых ученых (г. Гомель, 03-04 мая 2018 года) / А. Н. Лызиков [и др.]. — Гомель: ГомГМУ, 2018. — С. 678-679.
11. Кибитов А.О. Анализ Val158Met полиморфизма гена катехол-О-метилтрансферазы (COMT) у больных алкоголизмом и героиновой наркоманией с отягощенной наследственностью / А. О. Кибитов [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии. — 2010. — № 4. — С. 84–88.
12. Malhotra A.K. 2A functional polymorphism in the COMT gene and performance on a test of prefrontal cognition / A. K. Malhotra [et al.] // Am J Psychiat. — 2000. — Vol. 159 (4). — P. 652–654.
13. Лебедь, Т. Л. Молекулярно-генетическое типирование полиморфизмов: сб. метод. рек. / Т. Л. Лебедь, П. М. Лазарев, И. Н. Гейчук. — Пинск: ПолесГУ, 2011. — С.55-56.